

THESIS

MUNICH

1967

DER EINFLUSS DES METHYSERGID
(1-METHYL-D-LYSEKGSÄURE-BUTANOLAMID)
AUF SEROTONIN

UNTERSUCHT AM SPREADING-TEST BEI DER RATTE

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

Jöns Ehgartner



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

DER EINFLUSS DES METHYSERGID
(1-METHYL-d-LYSERGSAURE-BUTANOLAMID)
AUF SEROTONIN

UNTERSUCHT AM SPREADING-TEST BEI DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Jöns Ehgartner
aus München

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv. Doz. Dr. H. MATHIES
Coreferent:	Professor Dr. W. SEITZ
Dekan:	Professor Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 7. 1967

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
PROBLEMATIK	5
EIGENE VERSUCHE	6
Methodik und Versuchsanordnung	6
Versuchsreihen	8
STATISTISCHE AUSWERTUNG	13
Mathematisch-Statistische Methodik	13
Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen	13
Mathematisch-Statistische Analyse und Interpretation der Testergebnisse	15
DISKUSSION	23
ZUSAMMENFASSUNG	25
LITERATURHINWEISE	26

Im Rahmen von Untersuchungen über die hyaluronidase-hemmende Wirkung antirheumatischer Substanzen wurde auch Methysergid (1-Methyl-d-lysergsäure-butanolamid) als Serotonin-Antagonist untersucht. Der hyaluronidase-hemmende Effekt zahlreicher Antirheumatika war bereits durch Untersuchungen von DOMENJOZ (1-3) und MATHIES und Mitarbeiter (4-13) bekannt. Nachdem über einen angeblich antirheumatischen Effekt des Methysergid (Deseril) berichtet wurde (14, 15, 16), erschien es wesentlich, den Einfluß dieser Substanz auf die Hyaluronidase-Aktivität zu untersuchen. Hierbei wurde betont, daß ein hyaluronidase-hemmender Effekt nicht mit einer antirheumatischen Wirkung gleichzusetzen ist, wenn er auch möglicherweise eine nicht unwichtige Wirkungskomponente darstellt. Bei den Untersuchungen über die hyaluronidase-hemmende Wirkung des Methysergid (Deseril) wurde der auch dieser Arbeit zugrundeliegende Spreading-Test angewendet, in welchem die Hemmung der durch die Hyaluronidase gesteigerten Farbstoffausbreitung ausgewertet wurde. Daneben wurde der Einfluß auf die Ausbreitung einer reinen Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidase beobachtet.

Die Versuche von HEINRICH (17) zeigten, daß Methysergid eine deutliche permeabilitätshemmende Wirkung auf das Spreading besitzt, die nur bedingt einer hyaluronidase-hemmenden Wirkung zugeordnet werden kann. Es dürfte sich in erster Linie um eine hyaluronidase-unabhängige Wirkung handeln. Auch über Serotonin (5-Hydroxytryptamin), gegen das Methysergid einen Antagonisten darstellt (18, 20, 21, 22), liegen bereits Untersuchungen über die Beeinflussung des Spreading vor. BRUNNBERG (19) beschreibt eine Permeabilitätssteigerung nach intraperitonealer Gabe, die sowohl die Farbstoffquaddel, als auch die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel, allerdings bei unterschiedlichen Kurvenverläufen, betrifft.

Aufgabe dieser Arbeit war es, diese Ergebnisse zu überprüfen und zusätzlich den Einfluß des Serotonin-Antagonisten Methysergid auf die permeabilitätssteigernde Wirkung des Serotonin zu untersuchen. Hierzu wurde Methysergid in einem bestimmten Zeitabstand vor Gabe des Serotonin appliziert und die Methysergidosis bei gleichbleibender Dosierung des Serotonin variiert, um bei Aufhebung des Serotonineffekts das Wirkungsäquivalent des antagonistischen Effekts auszuwerten. Nachdem in zahlreichen Versuchen (18, 20, 21, 22) dieser antagonistische Effekt des Methysergid aufgezeichnet und entsprechend Wirkungsäquivalente ausgewertet worden waren, ergab sich durch die Versuchsanordnung, den Einfluß auf das Spreading zu untersuchen, eine weitere Möglichkeit, die notwendige Methysergid-Menge festzulegen, die imstande ist, den Effekt des Serotonin aufzuheben.

EIGENE VERSUCHE

METHODIK UND VERSUCHSANORDNUNG

Für die folgenden Versuche wurden weiße männliche Ratten mit einem Gewicht von 180 g bis 220 g verwendet. Die Versuche wurden in Evipannarkose (30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier s. c.) durchgeführt, nachdem hierbei kein störender Einfluß auf die Aktivität der Hyaluronidase festzustellen ist (13). Die Bauchhaut der Ratten wurde mit Pilca säuberlich enthaart. Dann wurde zunächst je eine intracutane Farbstoffquaddel (FQ) von 0,1 ccm einer 0,06 %igen Evans-blue-Lösung und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FHQ) gesetzt. Die Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung enthielt in 2 ccm oben genannter Endverdünnung 150 I. E. Hyaluronidase (Kinetin). Die zur Quaddel benötigte Menge von 0,1 ccm enthielt also 7,5 I. E. Hyaluronidase.

Ausgewertet wurde die Ausbreitung der Farbstoff-Flecken in der Bauchhaut 10 min nach der Farbstoffinjektion. Hierzu wurden die äußersten Konturen der Farbflecken umrandet und auf Zelluloidstreifen übertragen; anschließend wurden die Flächeninhalte planimetrisch ausgemessen. Sodann wurden zwei weitere Quaddelpaare mit oben genannten Lösungen zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion der Prüfsubstanz (bzw. der Prüfsubstanzen) gesetzt.

Jede Versuchsreihe bestand aus sechs männlichen weißen Ratten. Die Versuche waren als "lateinische" Quadrate geplant, wodurch sichergestellt war, daß sich die Lokalisation der Quaddeln von Tier zu Tier und von Versuch zu Versuch stets änderte. Wiederum erfolgte 10 min nach Quaddelsetzung die Ablesung und Ausmessung. Bei der Einteilung der Bauchhaut jeder Ratte in sechs Quadrate wurde darauf geachtet, daß Lokalisation 1 immer in der rechten oberen, Lokalisation 2 in der linken oberen, Lokalisation 3 in der rechten mittleren Bauchregion der Ratte usw. bestand.

VERSUCHSSERIE I

Versuchsreihe 1

Der Versuch beginnt mit der intracutanen Setzung einer Farbstoff-Quaddel (FQ) und einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FHQ) als Kontrollwerte mit Ausmessung der Ausbreitung nach 10 min. Sodann erfolgt die Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier intraperitoneal und nach 10 und 120 min die Setzung von Quaddelpaaren und deren Ablesung nach wiederum 10 min.

Die abgelesenen Einzelwerte sind aus Tabelle 1a ersichtlich, die Angabe der "lateinischen Quadrate" aus Tabelle 1b.

Versuchsreihe 2

Die Methodik ist die gleiche wie bei Versuchsreihe 1. Nach der Setzung der Kontrollquaddeln werden weitere Quaddelpaare 20 und 150 min nach Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier gesetzt und die Ausbreitung jeweils 10 min später abgelesen. Die Einzelwerte sind aus Tabelle 2a ersichtlich, die dazugehörigen "lateinischen Quadrate" aus Tabelle 2b.

Versuchsreihe 3

Die Setzung der Kontrollquaddeln erfolgt wie bei Versuchsreihe 1 und 2, anschließend wiederum die intraperitoneale Injektion von Serotonin wie oben und die Setzung der weiteren Quaddelpaare nach 30 und 50 min und Messung der Ausbreitung jeweils 10 min später. Die Einzelwerte sind aus Tabelle 3a ersichtlich, die Angabe der "lateinischen Quadrate" erfolgt in Tabelle 3b.

VERSUCHSSERIE II

Versuchsreihe 4

Es wird die Wirkung von Serotonin auf die Ausbreitung der Farbstoff (FQ)- und Farbstoff-Hyaluronidase(FHQ)-Quaddel nach vorheriger Injektion von Methysergid (Deseril, Fa. Sandoz) untersucht. Zuerst erfolgt wie in den obigen Versuchen die Setzung der Kontrollquaddeln und ihre Ablesung nach 10 min. Einer subcutanen Injektion von 25 µg Deseril/kg Tier schloß sich nach 20 min eine intraperitoneale Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier an. Darauf folgte nach 120 und 150 min die Setzung einer Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel und deren Ablesung nach jeweils 10 min. Die Einzelwerte der Versuchsreihe sind aus Tabelle 4a, die dazugehörigen "lateinischen Quadrate" aus Tabelle 4b ersichtlich.

Versuchsreihe 5

Die Methodik ist die gleiche wie bei Versuchsreihe 4. Nach Setzung und Ablesung der Kontrollquaddeln erfolgt wie oben die s.c. Injektion diesmal von 10 µg Deseril/kg Tier, 20 min später die intraperitoneale Gabe von 20 mg Serotonin/kg Tier. Darauf erfolgt wieder nach 120 und 150 min die Setzung von Quaddelpaaren und deren Ablesung nach 10 min. Die Einzelwerte sind aus Tabelle 5a ersichtlich, die Angabe der "lateinischen Quadrate" erfolgt in Tabelle 5b.

Versuchsreihe 1

Tier	Farbst. - Quaddel (FQ _v)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ _v)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₀)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₂₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₂₀)
	vor		10 min nach		120 min nach	
	20 mg Serotonin/kg Tier intraperitoneal					
	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
	1	115	170	100	160	110
2	110	160	105	160	105	180
3	100	165	110	160	110	190
4	115	170	110	160	115	200
5	105	160	115	150	115	180
6	110	155	110	150	115	190
$\bar{x}$	109	162	110	153	110	190

 $\bar{x}$ = Mittelwert

Tab. 1a

Lokalisation

Tier	1	2	3	4	5	6
1	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₀	FHQ ₁₀	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀
2	FHQ ₁₂₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₀	FHQ ₁₀	FQ ₁₂₀
3	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₀	FHQ ₁₀
4	FHQ ₁₀	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₀
5	FQ ₁₀	FHQ ₁₀	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ _v	FHQ _v
6	FHQ _v	FQ ₁₀	FHQ ₁₀	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ _v

Tab. 1b

Versuchsreihe 2

	Farbst. - Quaddel (FQ _V)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ _V)	Farbst. - Quaddel (FQ ₂₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₂₀)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₅₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₅₀)
	vor		20 min nach		150 min nach	
	20 mg Serotonin/kg Tier intraperitoneal					
Tier	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
1	110	165	130	165	125	225
2	120	175	130	165	115	225
3	120	155	125	170	115	220
4	120	155	125	175	125	215
5	110	160	125	180	125	205
6	110	155	125	180	130	215
- x	115	165	127	173	122	217

Tab. 2a

Lokalisation

	1	2	3	4	5	6
Tier						
1	FQ ₂₀	FHQ ₂₀	FQ _V	FHQ _V	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀
2	FHQ ₁₅₀	FQ ₂₀	FHQ ₂₀	FQ _V	FHQ _V	FQ ₁₅₀
3	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ ₂₀	FHQ ₂₀	FQ _V	FHQ _V
4	FHQ _V	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ ₂₀	FHQ ₂₀	FQ _V
5	FQ _V	FHQ _V	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ ₂₀	FHQ ₂₀
6	FHQ ₂₀	FQ _V	FHQ _V	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ ₂₀

Tab. 2b

Versuchsreihe 3

Tier	Farbst. - Quaddel (FQ _v)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ _v)	Farbst. - Quaddel (FQ ₃₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₃₀)	Farbst. - Quaddel (FQ ₅₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₅₀)
	vor		30 min nach		50 min nach	
	20 mg Serotonin/kg Tier intraperitoneal					
	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
1	100	170	115	175	115	160
2	100	185	105	170	105	175
3	110	185	115	165	110	165
4	100	175	100	165	125	160
5	100	170	110	170	110	155
6	110	170	115	170	125	175
$\bar{x}$	105	176	110	169	115	165

Tab. 3a

Lokalisation

	1	2	3	4	5	6
Tier						
1	FHQ ₃₀	FQ ₅₀	FHQ _v	FQ _v	FQ ₃₀	FHQ ₅₀
2	FHQ ₅₀	FHQ ₃₀	FQ ₅₀	FHQ _v	FQ _v	FQ ₃₀
3	FQ ₃₀	FHQ ₅₀	FHQ ₃₀	FQ ₅₀	FHQ _v	FQ _v
4	FQ _v	FQ ₃₀	FHQ ₅₀	FHQ ₃₀	FQ ₅₀	FHQ _v
5	FHQ _v	FQ _v	FQ ₃₀	FHQ ₅₀	FHQ ₃₀	FQ ₅₀
6	FQ ₅₀	FHQ _v	FQ _v	FQ ₃₀	FHQ ₅₀	FHQ ₃₀

Tab. 3b

Versuchsreihe 4

Tier	Farbst. - Quaddel (FQ _v)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ _v)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₂₀)	Farbst. - Hyase Quaddel (FHQ ₁₂₀)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₅₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₅₀)
	vor		120 min nach		150 min nach	
	20 mg Serotonin/kg Tier i. p.					
	20 min vorher 25 µg Deseril/kg Tier s. c.					
	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
1	90	150	85	115	95	120
2	100	150	100	105	90	105
3	95	150	85	110	85	110
4	100	165	90	110	90	105
5	95	165	105	110	100	110
6	95	165	90	110	95	105
$\bar{x}$	97	157	92	110	92	109

Tab. 4a

Lokalisation

Tier	1	2	3	4	5	6
1	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀
2	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀
3	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀
4	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀
5	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v
6	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v

Tab. 4b

Versuchsreihe 5

Tier	Farbst. - Quaddel (FQ _v)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ _v)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₂₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₂₀)	Farbst. - Quaddel (FQ ₁₅₀)	Farbst. - Hyase- Quaddel (FHQ ₁₅₀)
	vor		120 min nach		150 min nach	
	20 mg Serotonin/kg Tier i. p.					
	20 min vorher 10 µg Deseril/kg Tier s. c.					
	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²	mm ²
1	110	165	110	170	110	165
2	105	165	115	170	110	160
3	110	165	115	170	115	170
4	110	165	110	165	105	170
5	110	170	115	165	115	175
6	110	165	105	160	105	165
$\bar{x}$	109	166	112	166	110	167

Tab. 5a

Lokalisation

	1	2	3	4	5	6
Tier						
1	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀
2	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀
3	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀
4	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v	FQ ₁₂₀
5	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v	FHQ _v
6	FHQ _v	FQ ₁₂₀	FHQ ₁₂₀	FQ ₁₅₀	FHQ ₁₅₀	FQ _v

Tab. 5b

STATISTISCHE AUSWERTUNG

MATHEMATISCH STATISTISCHE METHODIK

Die vorliegenden Meßreihen werden zunächst durch die statistischen Meßzahlen Mittelwert $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichung (m. q. A.) $s_{\bar{x}}$ beschrieben. Für die Prüfung von Unterschieden sind die Einflüsse versuchsbedingter Variabilitäten zu berücksichtigen. In einer zweifachen Varianzanalyse läßt sich die Gesamtvarianz nach drei Komponenten hin trennen und damit unter Berücksichtigung des Einflusses der Variabilität zwischen den Tieren und der Komponente zwischen den Stufen eine Restvarianz finden, die als methodische Variabilität bezeichnet werden kann. Aus ihrem Verhältnis zur Komponente zwischen den Beobachtungsstufen ist mittels des Quotiententests ($F_{\text{emp.}}$) nach FISHER auf tatsächlich bestehende Unterschiede zwischen den Beobachtungen verschiedener Zeiten zu schließen, soweit die zugelassene Irrtumswahrscheinlichkeit $p = 0,05$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung nicht überschritten wird.

Als Ergebnisse der mathematisch statistischen Analyse sind die Freiheitsgrade FG der Varianzkomponente, Summenabstandsquadrate SAQ und Mittlere Abstandsquadrate MAQ, die Varianzquotienten $F_{\text{emp.}}$ zwischen jeweiliger Komponente und Restvarianz, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben, die ein Maß der Sicherheit für die getroffene Entscheidung (Differenz der Mittelwerte $\bar{x}_d > 0$) darstellt.

Hemmung, bzw. Ausbreitung der Quaddeln in % beziehen sich auf die beobachteten zugehörigen Kontrollwerte (100 %).

ERGEBNISSE DER EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN

In den folgenden Tabellen (Tab. 6 und 7) sind die Meßergebnisse der experimentellen Untersuchungen (Versuchsserie I und II) durch Mittelwerte $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichungen (m. q. A.) $s_{\bar{x}}$ beschrieben.

Tab. 6

Versuchsserie I - Kontrollwerte K und Meßwerte nach Injektion von Serotonin

Versuchsreihe	Anzahl Beob.	Zeit t	Farbstoff-Quaddeln			Farbstoff-Hyase-Quaddeln		
			Mittel m. q. A. Ausbreitung bzw. Hemmung			Mittel m. q. A. Ausbreitung bzw. Hemmung		
			$\bar{x}$	$+\frac{s}{x}$	$+\%$	$\bar{x}$	$+\frac{s}{x}$	$+\%$
1	6	K	109	2.4	-	163	2.5	-
	.	10' nach	108	2.1	-1	157	2.1	-4
	.	120' nach	112	1.7	+3	188	3.1	+15
2	6	K	115	2.2	-	164	3.7	-
	.	20' nach	127	1.2	+10	172	2.8	+5
	.	150' nach	122	2.5	+6	217	3.1	+13
3	6	K	103	2.1	-	175	3.0	-
	.	30' nach	110	2.6	+7	169	1.5	-3
	.	50' nach	115	3.4	+12	165	3.4	-6

Tab. 7

Versuchsserie II - Kontrollwerte K und Meßwerte nach Injektion von Deseril und Serotonin

Versuchsreihe	Anzahl Beob.	Zeit t	Farbstoff-Quaddeln			Farbstoff-Hyase-Quaddeln		
			Mittel m. q. A. Ausbreitung bzw. Hemmung			Mittel m. q. A. Ausbreitung bzw. Hemmung		
			$\bar{x}$	$+\frac{s}{x}$	$+\%$	$\bar{x}$	$+\frac{s}{x}$	$+\%$
4 (25 µg Des.)	6	K	96	2.9	-	157	3.4	-
	.	120' nach	92	3.4	-4	110	1.3	-30
	.	150' nach	92	2.2	-4	109	2.4	-30
5 (10 µg Des.)	6	K	109	2.9	-	166	0.8	-
	.	120' nach	112	1.7	+3	167	1.7	+0.6
	.	150' nach	110	1.8	+1	167	2.2	+0.6

MATHEMATISCH STATISTISCHE ANALYSE UND
INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

Versuchsserie 1

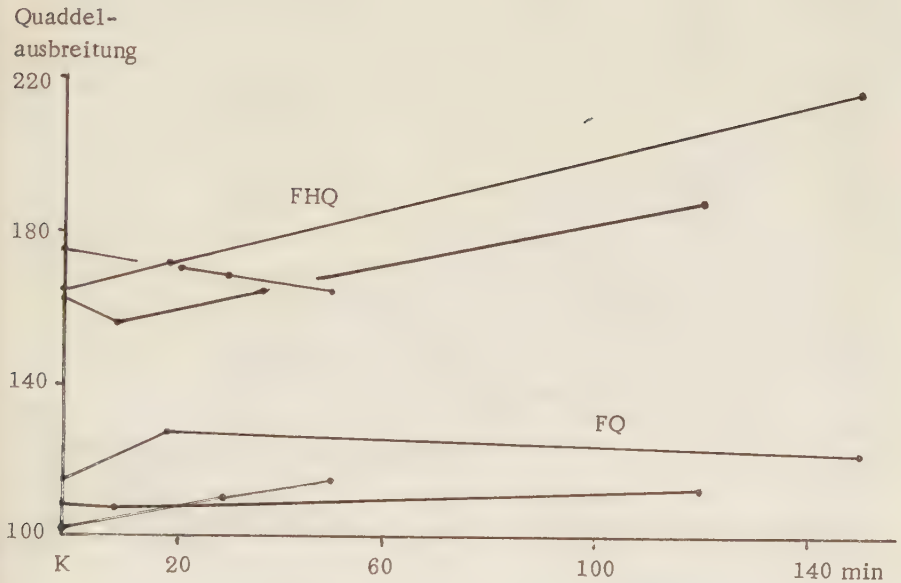


Abb. 1: Mittelwerte $\bar{x}$ und m. q. A. $s_{\bar{x}}$ für Farbstoff- und Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln zum Kontrollzeitpunkt K und bei Beobachtungszeiten von 10 bis 150 min nach Injektion von Serotonin.

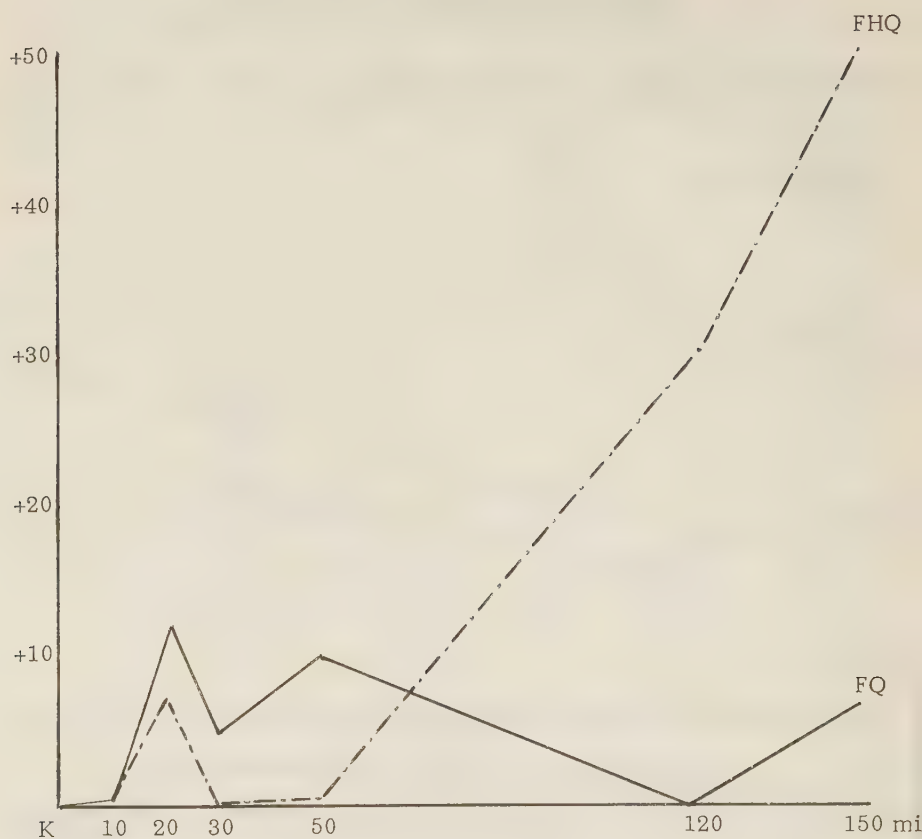


Abb. 2: Veränderung der Quaddelgröße zu den verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion von Serotonin, bezogen auf die dazugehörigen Kontrollquaddeln.

Tab. 8:

Varianzanalysen zur Versuchsserie I:

Beobachtungs- zeiten in min.	Varianz- komponente	FG	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
<u>FARBSTOFFQUADDEL</u>						
K' -10' -120'	gesamt	17	424	-	-	-
	zw. Tieren	5	124	24.8	0.93	> 0.05
	zw. Stufen	2	36	18.0	0.68	> 0.05
	Rest	10	264	26.4	-	-
K' -20' -150'	gesamt	17	791	-	-	-
	zw. Tieren	5	24	4.8	0.10	> 0.05
	zw. Stufen	2	420	210.0	6.05	< 0.05
	Rest	10	347	34.7	-	-
K' -30' -50'	gesamt	17	1095	-	-	-
	zw. Tieren	5	311	62.2	1.67	> 0.05
	zw. Stufen	2	411	205.5	5.51	< 0.05
	Rest	10	373	37.3	-	-
<u>FARBSTOFF-HYALURONIDASEQUADDEL</u>						
K' -10' -120'	gesamt	17	3945	-	-	-
	zw. Tieren	5	411	82.2	4.34	< 0.05
	zw. Stufen	2	3345	1672.5	88.49	< 0.001
	Rest	10	806	80.6	-	-
K' -20' -150'	gesamt	17	10824	-	-	-
	zw. Tieren	5	140	28.0	0.35	> 0.05
	zw. Stufen	2	9878	4939.0	61.27	< 0.001
	Rest	10	806	80.6	-	-
K' -30' -50'	gesamt	17	1050	-	-	-
	zw. Tieren	5	266	53.2	1.25	> 0.05
	zw. Stufen	2	358	179.0	4.2	= 0.05
	Rest	10	426	42.6	-	-

Für beide Quaddeltypen, FQ und FHQ, weist die mathematisch statistische Analyse der Varianzen eine sichere Ausbreitung nach, die bei den Farbstoff-Hyaluronidasequaddeln gegenüber den reinen Farbstoffquaddeln in stärkerem Maße erscheint; gegenüber der Kontrollposition beträgt die Ausbreitung im Maximum, 150 min nach der Injektion, für die FH-Quaddel 13 % gegenüber 6 % bei der F-Quaddel.

Die daraus abzuleitende Beschleunigung der Hyaluronidaseaktivität ist im Falle der FH-Quaddel insgesamt später zu beobachten, wogegen den F-Quaddeln nach anfangs stärkerem Anstieg eine erhöhte Aktivität erhalten zu bleiben scheint.

Versuchsserie 2

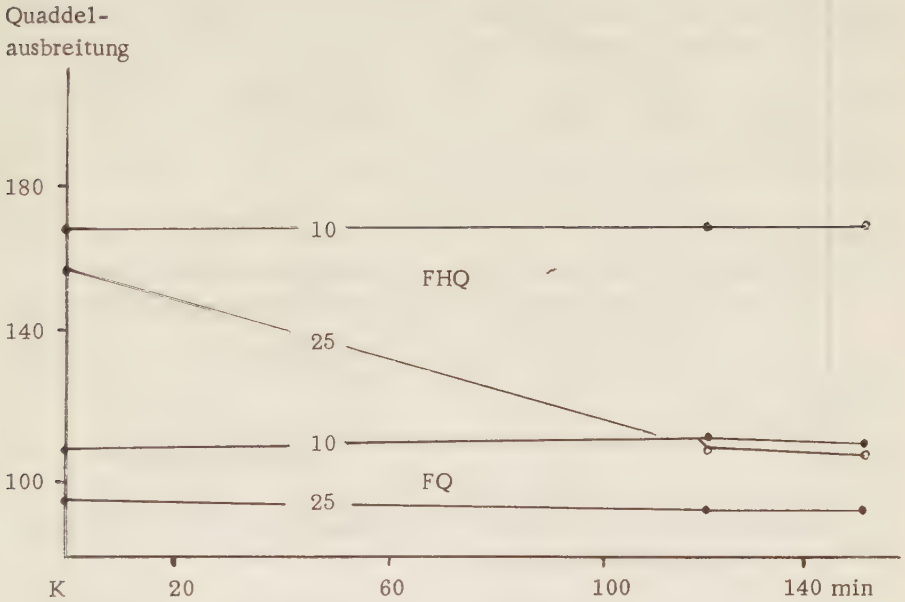


Abb. 3: Mittelwerte $\bar{x}$ und m. q. A. $s_{\bar{x}}$ für Farbstoff (FQ)- und Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln (FHQ) zum Kontrollzeitpunkt K und bei Beobachtung nach Injektion von Deseril und Serotonin.

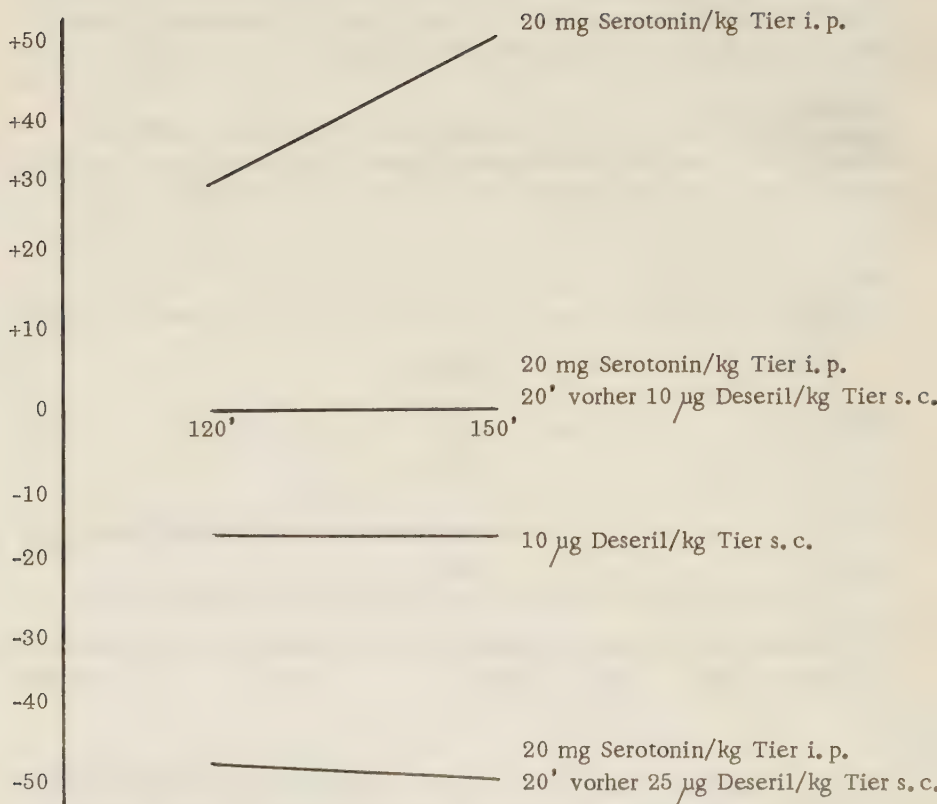


Abb. 4: Veränderung der Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln, bezogen auf die Ausgangswerte, nach Einwirkung von Serotonin 20 min nach Applikation von Deseril, gemessen 120 min und 150 min nach Serotoningabe (im Vergleich dazu Ausbreitung bei reiner Serotonin- und Deserilgabe (17)).

Tab. 9:

Varianzanalysen zur Versuchsserie II:

Beobachtungs- zeiten in min	Varianz- komponente	FG	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
<u>FARBSTOFFQUADDEL</u>		Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier und 25 µg Deseril/kg Tier				
K-120' -150'	gesamt	17	591	-	-	-
	zw. Tieren	5	274	54.8	2.00	> 0.05
	zw. Stufen	2	45	22.5	0.83	> 0.05
	Rest	10	272	27.2	-	-
		Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier und 10 µg Deseril/kg Tier				
K-120' -150'	gesamt	17	224	-	-	-
	zw. Tieren	5	107	21.4	2.18	> 0.05
	zw. Stufen	2	19	9.5	0.96	> 0.05
	Rest	10	98	9.8	-	-
<u>FARBSTOFF-HYALURONIDASEQUADDEL</u>		Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier und 25 µg Deseril/kg Tier				
K-120' -150'	gesamt	17	9745	-	-	-
	zw. Tieren	5	161	32.2	0.81	> 0.05
	zw. Stufen	2	9186	4593.0	11.54	< 0.01
	Rest	10	398	39.8	-	-
		Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier und 10 µg Deseril/kg Tier				
K-120' -150'	gesamt	17	250	-	-	-
	zw. Tieren	5	83	16.6	10.4	> 0.05
	zw. Stufen	2	8	4.0	0.25	> 0.05
	Rest	10	159	15.9	-	-

Nach vorheriger Injektion von Deseril erweist sich die Injektion von Serotonin bei Beobachtungen 120 und 150 min nach der Injektion für Farbstoff- und Farbstoffhyaluronidase-Quaddel als ausgleichend, wenn der Injektion von 20 mg Serotonin/kg Tier 20 min vorher die Injektion von 10 μ g Deseril/kg Tier vorausgeht. Eine Dosis von 25 μ g Deseril/kg Tier hat die Hemmung der Farbstoffhyaluronidase-Quaddeln bis zu beobachteten mittleren 30 % zur Folge; reine Farbstoff-Quaddeln weisen auch bei diesem Mengenverhältnis (Dosis Deseril : Dosis Serotonin) im beobachteten Zeitraum keine überwiegende Hemmung oder Ausbreitung auf.

DISKUSSION

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß auf die Gabe von Serotonin die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gegenüber den Leerwerten eine deutliche Steigerung erfährt, wobei zur letzten Versuchszeit von 150 min p. a. der Wert von + 52 qmm das Maximum zeigt. Der Kurvenverlauf deckt sich annähernd mit den von BRUNNBERG (19) aufgezeigten Ergebnissen. Dagegen konnte eine wesentliche Steigerung der Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddeln entgegen den Ergebnissen BRUNNBERGs nicht nachgewiesen werden, wenn auch in unseren Versuchen die Werte statistisch zu sichern waren. Es ist die Ausbreitung der reinen Farbstoffquaddel zwar gesteigert, doch nicht in dem Ausmaß, wie es von BRUNNBERG mitgeteilt wird. Auch bei Betrachtung der prozentualen Steigerung der Ausbreitung übertrifft die der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel die der reinen Farbstoffquaddel wesentlich. Es ist deshalb eine geringe permeabilitätssteigernde hyaluronidaseunabhängige Wirkung des Serotonins und eine zusätzliche hyaluronidaseaktivierende Wirkung des Serotonins anzunehmen.

In den weiteren Versuchen wurde der Einfluß des Serotonin-Antagonisten Methysergid (Deseril) auf den eben beschriebenen Effekt des Serotonins untersucht. Hierbei zeigte sich, daß 25 µg Deseril/kg Tier nicht nur den Effekt von 20 mg Serotonin/kg Tier aufheben, sondern sogar hemmende Einflüsse auf das Spreading der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel ausüben, die die Werte bei alleiniger Gabe von 10 µg Deseril/kg Tier nicht unerheblich übersteigen (siehe Abb. 4). Nach den Untersuchungen von HEINRICH (17) befanden sich die Werte 120 min und 150 min nach alleiniger Applikation von 10 µg Deseril/kg Tier bei -15 qmm gegenüber den Ausgangswerten, während sie hier nach Applikation von 25 µg Deseril/kg Tier 20 min vor Gabe von 20 mg Serotonin/kg Tier bei -45 qmm liegen. Orientierende Versuche mit 12,5 µg Deseril/kg Tier ergaben, daß die spreading-steigernde Wirkung des Serotonins noch nicht zum Durchbruch gelangt, denn es ist immer noch eine Hemmung der Ausbreitung zu beobachten, während bei Applikation von 10 µg Deseril/kg Tier vor Serotoningabe keine statistisch faßbare Abweichung im Sinne Vergrößerung oder Verkleinerung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorhanden ist. Somit ist bei dieser Dosierung eine vollständige Aufhebung des Serotonineffekts erreicht. Auch die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel ist praktisch gleich. Damit ist der antagonistische Effekt des Deseril bei einer Dosierung von 10 µg /kg Tier einem Serotonineffekt von 20 mg Serotonin/kg Tier gleichzusetzen. Diese Werte gelten bei einer Einwirkungsdauer des Deseril von 20 min bis zur Serotoninapplikation, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Meßzeiten 120 min und 150 min nach Serotoningabe betragen. Diese Versuchszeiten wurden gewählt, da das Serotonin zu diesen Zei-

ten die stärkste Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel im Vergleich zur Farbstoff-Quaddel zeigte.

Nach Untersuchungen von DOEPFNER und CERLETTI (20) in den Laboratorien der Firma SANDOZ AG ist unter der Berücksichtigung der Molekulargewichte 1 Molekül Deseril in der Lage, den Effekt von 40 Molekülen Serotonin um 50 % zu hemmen, d. h. 1 mg Deseril/kg sei in der Lage, die Wirkung von ca. 20 mg/kg Serotonin zur Hälfte aufzuheben. Diese Versuche beziehen sich auf die Hemmung des Serotoninödems an der Rattenpfote durch vorherige Gabe von Deseril 30 min vor Applikation des Serotonins. Demnach liegen unsere Versuchsergebnisse wesentlich günstiger bezüglich des antagonistischen Wirkungsäquivalents. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß in der Versuchsanordnung des Serotoninödems der Rattenpfote das Serotonin am Meßort appliziert wurde, während in unseren Versuchen eine intraperitoneale Applikation erfolgte.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Spreading-Test an weißen Ratten konnte der fördernde Einfluß des Serotonins nach intraperitonealer Applikation auf die Ausbreitung der reinen Farbstoff-Quaddel und der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel analog zu früheren Untersuchungen bestätigt werden. Neben der allgemeinen permeabilitätssteigernden Wirkung des Serotonin konnte eine geringe zusätzliche hyaluronidaseaktivierende Wirkung des Serotonin aufgezeigt werden.

In weiteren Versuchen konnte auch im Spreading-Test die Wirksamkeit von Methysergid (Deseril) als Serotonin-Antagonist beobachtet werden. Es ergab sich die Möglichkeit, durch Variierung der Methysergidosis bei gleichbleibender Serotoninindosierung das Wirkungsäquivalent des antagonistischen Effekts zu bestimmen.

LITERATURHINWEISE

1. DOMENJOZ, R.: Actual. pharmacol. 7, 84 (1954)
2. DOMENJOZ, R.: Archiv exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
3. DOMENJOZ, R., MÖRSDÖRF, K.:
Internat. Symposium über nicht steroide Anti-
phlogistica, Mailand 8. -10. Sept. (1964)
Excerpta Medica Found. S. Garratini Amsterdam
(1965)
4. MATHIES, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
5. MATHIES, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
6. MATHIES, H., JANKOWSKI, A.:
Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
7. MATHIES, H., GLÜCK, A., POULANTZAS, J. u. SCHMIDT, D.:
Med. exp. 1, 64 (1959)
8. MATHIES, H.: Med. Wschr. 12, 685 (1958)
9. MATHIES, H.: Arzneimittel-Forsch. 15, 738 (1965)
10. MATHIES, H., GAREISSEN, G.:
Med. Klin. 55, 190 (1960)
11. MATHIES, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
12. MATHIES, H., BIECHELE, I. u. HARTMANN, M.:
Ärztl. Forsch. 14, 160 (1960)
13. MEDER, H.: Dissert. München 1961
14. JUNG, A.: Praxis 49, 161 (1960)
15. MERIEL, P., RUFFIÉ, R., FOURNIÉ, A., AYROLLES, C. u. CUQ, P.:
Rev. Rheum. 27, 149 (1960)
16. SCHERBEL, A.L. u. HARRISON, J.W.:
Clin. Res. 6, 402 (1958)
17. HEINRICH, U.: Dissert. München 1964
18. FANCHAMPS, A., DOEPFNER, W., WEIDMANN, A. u. CERLETTI, A.:
Schweiz. med. Wschr. 90, 1040 (1960)

19. BRUNNBERG, F.J.: Dissert. München 1962
20. DOEPFNER, W., CERLETTI, A.:
 Int. Arch. Allergy 12, 89 (1958)
21. BERDE, B., DOEPFNER, W., CERLETTI, A.:
 Helvet. physiol. pharmacol. acta 18, 537 (1960)
22. CERLETTI, A.: Mediatori chimici, funzione nervosa e circolo
 cerebrale, II Symposium, Settima Medica
 Fiorentina, Maggio 1960, S. 27
23. GIBIAN, H.: Mucopolysaccharide u. Mucopolysaccharidasen
 IV. Band (1959)

Herrn Priv.-Dozent Dr. H. MATHIES danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung. Herrn Professor Dr. W. SEITZ bin ich dankbar dafür, daß mir die Bearbeitung des Themas an der Medizinischen Poliklinik der Universität München möglich war und mir die notwendigen Versuchsgерäte zur Verfügung standen.

Herrn Walter Joh. ZIEGLER danke ich für die Durchführung der statistischen Berechnungen.

LEBENS LAUF

Am 20. September 1939 wurde ich in München geboren.

Im Herbst 1945 trat ich in die Volksschule Icking/Isartal ein. Ab Herbst 1949 besuchte ich die Oberrealschule Icking, wo ich im Juli 1958 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst 1958 begann ich in München mein Medizinstudium, legte dort im Frühjahr 1960 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Sommer 1961 die Ärztliche Vorprüfung ab. Das Klinische Studium betrieb ich ebenfalls an der Universität München, wo ich mich auch mit der Bearbeitung meines Promotionsthemas befaßte. Im Februar 1965 beendete ich mein klinisches Studium mit dem Staatsexamen.

